

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problem Mailbox.**

Partial translation of the Japanese Laid Open Patent  
publication No.10-101543

Laid-open No.: 10-101543

Laid-open date: April 21, 1998

Application No.: 8-261842

Filing date: October 2, 1996

Applicant: Kansai kouso Co., Ltd.

Inventor: SATO Hiroaki

Inventor: NAGATOMI Hiroshi

Title of the invention: Inhibitor for tyrosinase activity and  
cosmetic composition

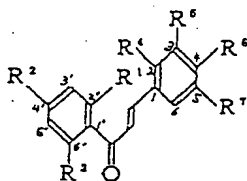
#### A. Claims

##### Claim 1

A tyrosinase activity inhibitor composition comprising  
flavonoid having hydroxyl groups at 2' and 4' positions  
(chalcones may have hydroxyl groups at least one of 2' and 4'  
positions and 2 and 4 positions) as an effective ingredient.

claim 2. The tyrosinase activity inhibitor composition  
according to claim 1, wherein the flavonoid having hydroxyl  
groups at 2' and 4' positions is:

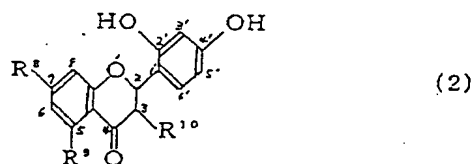
chalcones represented by the formulae (1):



(1)

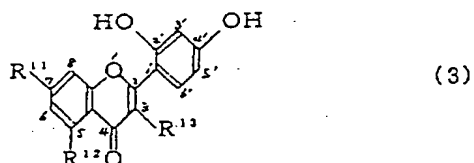
(in the formulae (1), each of  $R^1$  to  $R^7$  may be the same or different and is a hydrogen atom or a hydroxyl group, and wherein at least one of 2' and 4' positions and 2 and 4 positions are hydroxyl groups);

flavanone derivatives represented by the formulae (2):



(in the formulae (2), each of  $R^8$  to  $R^{10}$  may be the same or different and is a hydrogen atom or a hydroxyl group);

flavone derivatives represented by the formulae (3):



(in the formulae (3), each of  $R^{11}$  to  $R^{13}$  may be the same or different and is a hydrogen atom or a hydroxyl group); or mixture thereof.

claim 3. A cosmetic composition comprising the tyrosinase activity inhibitor of claims 1 or 2.

B. Page 2, left column [0001]

[Field of the invention]

The present invention relates to tyrosinase activity inhibitor composition which is effective in prevention or treatment of liver spots or freckles, and cosmetic composition using the

inhibitor composition.

C. Page 2, right column [0004]

[problems to be solved by the invention]

Therefore, the purpose of the present invention is to provide a tyrosinase activity inhibitor composition which strongly suppresses the tyrosinase activity responsible for melanin production. The another purpose of the present invention is to provide a cosmetic composition which has whitening effect by suppressing the melanin production by inhibiting tyrosinase activity.

D. Page 3, right column, [0009]

Chalcones represented by the formulae(1) include, for example, 2',4'-dihydroxychalcone, 2',4',4-trihydroxychalcone, 2',4',3,4-tetrahydroxychalcone, 2',4',3,4,5-pentahydroxychalcone, 2,4-dihydroxychalcone, 2',2,4-trihydroxychalcone, 2',4',2,4-tetrahydroxychalcone, and 2',4',6,2,4-pentahydroxychalcone.

E. Page 4, left column, [0011]

Flavanone derivatives represented by the formulae (2) include, for example, 2',4'-dihydroxyflavonone, 3,2',4'-trihydroxyflavonone, 5,2',4'-trihydroxyflavonone, 7,2',4'-trihydroxyflavonone, 5,7,2',4'-tetrahydroxyflavonone (steppogenin), 5,2',4'-trihydroxy-7-methoxyflavonone (artocarpanone), and 5,7,2',4'-tetrahydroxyflavonol (dihydromorin). Especially, 5,7,2',4'-tetrahydroxyflavonone is preferred.

F. Page 4, left column, [0013]

Flavone derivatives represented by the formulae (3) include, for example, 2',4'-dihydroxyflavone, 5,2',4'-trihydroxyflavone, 7,2',4'-trihydroxyflavone, 5,2',4'-trihydroxy-7-methoxyflavone, 5,7,2',4'-tetrahydroxyflavone, 5,2',4'-trihydroxyflavonol, 7,2',4'-trihydroxyflavonol, and 5,7,2',4'-tetrahydroxyflavonol (morin).

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平10-101543

(43) 公開日 平成10年(1998) 4月21日

(51) Int.Cl.<sup>6</sup>

識別記号

F I

A 6 1 K 7/48

A 6 1 K 7/48

7/00

7/00

X

C

D

31/12

A E D

31/12

A E D

審査請求 未請求 請求項の数 3 O L (全 7 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号

特願平8-261842

(22) 出願日

平成8年(1996)10月2日

(71) 出願人 591267785

関西酵素株式会社

福岡県大野城市仲畑2丁目8番41号

(72) 発明者 佐藤 宏晶

福岡県大野城市山田3-1-25 原田荘  
202

(72) 発明者 長福 博志

福岡県筑紫野市筑紫駅前通1-10 シティ  
ハイム筑紫312

(74) 代理人 弁理士 酒井 一

(54) 【発明の名称】 チロシナーゼ活性阻害剤及び化粧料

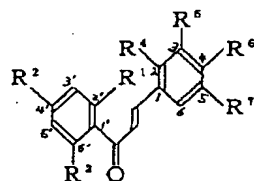
(57) 【要約】

【課題】メラニン生成に関与するチロシナーゼ活性を強く抑制するチロシナーゼ活性阻害剤、並びにチロシナーゼ活性を抑制することによりメラニン生成を抑制し、美白作用等を示す化粧料を提供すること。

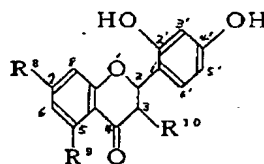
【解決手段】式(1) ( $R^1 \sim R^7$ : H, OH、但し、2位及び4位、若しくは2'位及び4'位の少なくとも一方はOH) で表されるカルコン類、式(2) ( $R^8 \sim R^{10}$ : H, OH) で表されるフラバノン誘導体、式

(3) ( $R^{11} \sim R^{13}$ : H, OH) で表されるフラボン誘導体又はこれらの混合物等の2'位及び4'位に水酸基を有するフラボノイド(但し、カルコン類は、2位及び4位、若しくは2'位及び4'位の少なくとも一方に水酸基を有しておれば良い)を有効成分として含有するチロシナーゼ活性阻害剤及び化粧料。

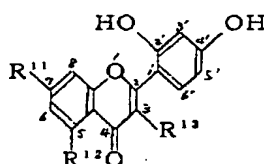
【化1】



(1)



(2)

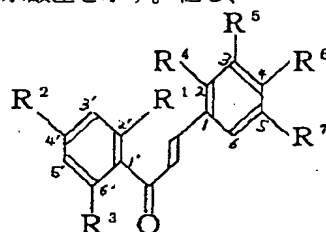


(3)

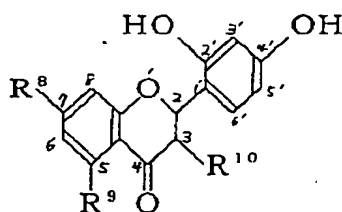
## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 2'位及び4'位に水酸基を有するフラボノイド（但し、カルコン類は、2位及び4位、若しくは2'位及び4'位の少なくとも一方に水酸基を有しておれば良い）を有効成分として含有するチロシナーゼ活性阻害剤。

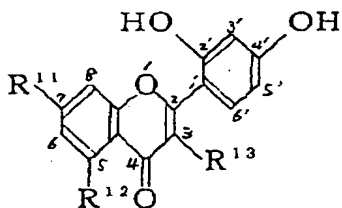
【請求項2】 2'-及び4'-位に水酸基を有するフラボノイドが、式（1）（式中、 $R^1 \sim R^7$ は同一若しくは異なる基であって、水素原子又は水酸基を示す。但し、



(1)



(2)



(3)

【請求項3】 請求項1又は2に記載のチロシナーゼ活性阻害剤を含む化粧料。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、皮膚のシミ、ソバカス等の予防又は治療に有効なチロシナーゼ活性阻害剤及び該阻害剤を利用した化粧料に関する。

## 【0002】

【従来の技術】従来、皮膚のシミ、ソバカスの予防又は治療を目的として、チロシナーゼ活性を阻害することによりメラニン生成を抑制する物質が種々提案されている。具体的には、ビタミンC、ハイドロキノン、コウジ酸、チオール系化合物、種々の動植物抽出物が知られており、これらを配合する化粧料が開発され、商品化されている。しかし、前記ビタミンC、ハイドロキノン、コウジ酸は極性が高いため、化粧料として配合するにはこの点を考慮する必要がある。また前記チオール系化合物

2位及び4位、若しくは2'位及び4'位の少なくとも一方は水酸基である）で表されるカルコン類、式（2）

（式中、 $R^8 \sim R^{10}$ は同一若しくは異なる基であって、水素原子又は水酸基を示す）で表されるフラバノン誘導体、式（3）（式中、 $R^{11} \sim R^{13}$ は同一若しくは異なる基であって、水素原子又は水酸基を示す）で表されるフラボン誘導体又はこれらの混合物である請求項1に記載のチロシナーゼ活性阻害剤。

## 【化1】

は、化粧料への配合にあたって安定性に問題がある。

【0003】一方、フラボノイドは、木材や植物中に存在し、また各種のフラボノイドが合成により得られることも知られている。しかしながら、2'-及び4'-位に水酸基を有するフラボノイドがチロシナーゼ活性を阻害することについては知られていない。

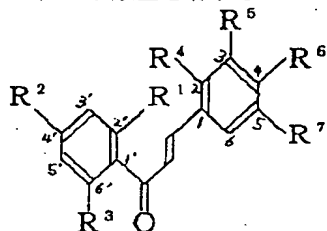
## 【0004】

【発明が解決しようとする課題】従って本発明の目的は、メラニン生成に関与するチロシナーゼ活性を強く抑制するチロシナーゼ活性阻害剤を提供することにある。本発明の別の目的は、チロシナーゼ活性を抑制することによりメラニン生成を抑制し、美白作用等を示す化粧料を提供することにある。

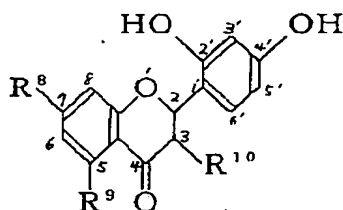
## 【0005】

【課題を解決するための手段】本発明によれば、式（1）（式中、 $R^1 \sim R^7$ は同一若しくは異なる基であって、水素原子又は水酸基を示す。但し、2位及び4位、

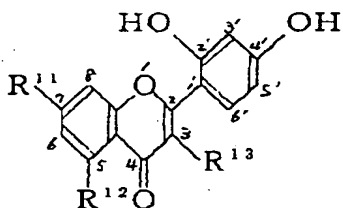
若しくは2'位及び4'位の少なくとも一方は水酸基である)で表されるカルコン類、式(2)(式中、R<sup>8</sup>~R<sup>10</sup>は同一若しくは異なる基であって、水素原子又は水酸基を示す)で表されるフラバノン誘導体、式(3)(式中、R<sup>11</sup>~R<sup>13</sup>は同一若しくは異なる基であって、水素原子又は水酸基を示す)で表されるフラボン誘導体又はこれらの混合物等の2'位及び4'位に水酸基を有するフ



(1)



(2)



(3)

【0007】また、本発明によれば、前記チロシナーゼ活性阻害剤を含む化粧料が提供される。

【0008】

【発明の実施の形態】以下本発明を更に詳細に説明する。本発明者らは、カルコン類、フラバノン類、フラボン類、イソフラボン類、ベンザルクマラノン類、アントシアン類等の各種フラボノイドの中でも2'位及び4'位に水酸基を有するフラボノイド(但し、カルコン類は、2位及び4位、若しくは2'位及び4'位の少なくとも一方に水酸基を有しておれば良い)が、チロシナーゼ活性阻害作用を有することを見出し本発明を完成した。従って、本発明のチロシナーゼ活性阻害剤は、2'位及び4'位に水酸基を有するフラボノイドを有効成分とする。2'位及び4'位に水酸基を有するフラボノイドとしては、2'位及び4'位に水酸基を有しておれば(但し、カルコン類は、2位及び4位、若しくは2'位及び4'位の少なくとも一方に水酸基を有しておれば良い)、特に限定されるものではない。好ましくは前記式(1)~(3)で表されるフラボノイドを挙げることができる

ラボノイド(但し、カルコン類は、2位及び4位、若しくは2'位及び4'位の少なくとも一方に水酸基を有しておれば良い)を有効成分として含有するチロシナーゼ活性阻害剤が提供される。

【0006】

【化2】

が、所望の作用を示すものであれば前記式中にアミノ基、アルキル基等の水酸基以外の置換基が結合されたものでも良い。

【0009】前記式(1)で表されるカルコン類としては、例えば、2', 4'-ジヒドロキシカルコン、2', 4', 4'-トリヒドロキシカルコン、2', 4', 3, 4'-テトラヒドロキシカルコン、2', 4', 3, 4, 5'-ペンタヒドロキシカルコン、2, 4'-ジヒドロキシカルコン、2', 2, 4'-トリヒドロキシカルコン、2', 4', 2, 4'-テトラヒドロキシカルコン、2', 4', 6', 2, 4'-ペンタヒドロキシカルコン等を挙げることができる。

【0010】これらカルコン類は、天然物であっても、また公知の方法で合成されたものでも良く、例えば、2', 4', 4'-トリヒドロキシカルコンは、等モルの2, 4'-ジヒドロキシアセトフェノンと、4'-ヒドロキシベンズアルデヒドとをエタノールに溶解後、濃水酸化カリウムにより約50℃で数時間縮合させ酸性にして遊離させる方法等により得ることができる。また、2',



4', 6', 2, 4-ペンタヒドロキシカルコンは、等モルの2, 4, 6-トリヒドロキシアセトフェノンと、2, 4-ジヒドロキシベンズアルデヒドとを上記方法に従って反応させることにより得ることができる。

【0011】前記式(2)で表されるフラバノン誘導体としては、例えば、2', 4'-ジヒドロキシフラバノン、3, 2', 4'-トリヒドロキシフラバノン、5, 2', 4'-トリヒドロキシフラバノン、7, 2', 4'-トリヒドロキシフラバノン、5, 7, 2', 4'-テトラヒドロキシフラバノン(ステッポゲニン(step pogenin))、5, 2', 4'-トリヒドロキシ-7-メトキシフラバノン(アルトカルパノン(artocarpanone))、5, 7, 2', 4'-テトラヒドロキシフラバノール(ジハイドロモリン(dihydromorin))等を挙げることができる。特に、5, 7, 2', 4'-テトラヒドロキシフラバノン(ステッポゲニン)が好ましい。

【0012】これらフラバノン誘導体は、天然物であっても、また公知の方法で合成されたものでも良く、例えば、5, 7, 2', 4'-テトラヒドロキシフラバノン(ステッポゲニン)は、2', 4', 6', 2, 4-ペンタヒドロキシカルコンをpH7のMcIlvayの緩衝液中で加熱還流する方法等により得ることができる。また、ステッポゲニンは、例えばクワの木又はクワ科パンノキ属(*Artocarpus*)に属するパンノキ(*Artocarpus incisus*)の粉末又は削り屑を温時エーテル等の溶媒抽出物から精製単離する方法等により得ることもできる。

【0013】前記式(3)で表されるフラボン誘導体としては、例えば、2', 4'-ジヒドロキシフラボン、5, 2', 4'-トリヒドロキシフラボン、7, 2', 4'-トリヒドロキシフラボン、5, 2', 4'-トリヒドロキシ-7-メトキシフラボン、5, 7, 2', 4'-テトラヒドロキシフラボン、5, 2', 4'-トリヒドロキシフラボノール、7, 2', 4'-トリヒドロキシフラボノール、5, 7, 2', 4'-テトラヒドロキシフラボノール(モリン(morin))等を挙げることができる。

【0014】これらフラボン誘導体は、天然物であっても、また公知の方法で合成されたものでも良く、例えば、5, 7, 2', 4'-テトラヒドロキシフラバノン(ステッポゲニン)と、等モルのヨウ素( $I_2$ )とを氷酢酸に溶解し、酢酸ナトリウム存在下に加熱する方法等により得ることができる。

【0015】本発明のチロシナーゼ活性阻害剤は、前記有効成分を含有しておれば良く、その含有割合は、0.0001重量%以上である。

【0016】本発明の化粧料は、前記チロシナーゼ活性阻害剤を必須成分として含有し、好ましくはチロシナーゼ活性阻害作用に基づくメラニン生成抑制作用を示し、美白化粧料とすることができる。前記チロシナーゼ活性阻害剤の化粧料への配合割合は、有効成分である特定の

フラボノイドを0.0001重量%以上、特に0.0001~20重量%、更には0.0001~10重量%であるのが望ましい。

【0017】本発明の化粧料には、前記チロシナーゼ活性阻害剤の他に、その目的に応じて種々の材料を配合することができる。特に従来公知の美白剤、しわ予防剤、保湿剤又はこれらの混合物を配合することにより、所望効果を相乗的に向上させることができる。

【0018】前記美白剤としては、例えばコウジ酸、アスコルビン酸、ハイドロキノン、チオール系化合物、これらの誘導体、これらを含む動物の抽出物又はこれらの混合物等を挙げることができる。前記保湿剤としては、例えばグリセリン、プロピレングリコール、1,3-ブチレングリコール、ソルビトール、マンニトール、ポリエチレングリコール、ジプロピレングリコール等の多価アルコール類；アミノ酸、乳酸ナトリウム、ピロリドンカルボン酸ナトリウム等のNMF成分；ヒアルロン酸；コラーゲン；エラスチン；コンドロイチン硫酸；フィブロネクチン；セラミド類；ヘパリン類似様物質；キトサン等の水溶性高分子物質又はこれらの混合物等を挙げることができる。前記美白剤、しわ防止剤又は保湿剤を配合する際の配合割合は、好ましくは前記チロシナーゼ活性阻害剤の有効成分の0.001~1000倍量、特に好ましくは0.005~5.00倍量の範囲で配合するのが望ましい。

【0019】本発明の化粧料には、化粧料の種類に応じて一般に配合する油脂類、界面活性剤、アルコール類、脂肪酸類、防腐剤、殺菌剤、増粘剤、酸化防止剤、色素、香料、水溶性高分子、紫外線吸収剤、キレート剤、pH調整剤、緩衝剤、精製水等の他の成分を適宜配合することもできる。

【0020】前記増粘剤としては、アルギン酸ナトリウム、キサンタンガム、ケイ酸アルミニウム、マルメロ種子抽出物、トラガントガム、デンプン等の天然高分子物質；メチルセルロース、可溶性デンプン、ヒドロキシエチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、可溶性デンプン、カチオン化セルロース等の半合成高分子物質；カルボキシビニルポリマー、ポリビニルアルコール等の合成高分子物質又はこれらの混合物等を挙げることができる。前記防腐剤としては、安息香酸塩、ソルビン酸塩、ジヒドロ酢酸塩、パラオキシ安息香酸エステル、2, 2, 4'-トリクロロ-2'-ヒドロキシジフェニルエーテル、3, 4, 4'-トリクロロカルバニド、塩化ベンザルコニウム、エタノール等を挙げることができる。前記酸化防止剤としては、ジブチルヒドロキシトルエン、ブチルヒドロキシアニソール、ビタミンE、没食子酸プロピル等を挙げることができる。前記紫外線吸収剤としては、4-メトキシベンゾフェノン、オクチルジメチルパラアミノベンゾエート、エチルヘキシルパラメトキシサイナメート、酸化チタン、カオリン、タルク等

を挙げることができる。前記キレート剤としては、エチレンジアミン四酢酸塩、ピロリン酸塩、ヘキサメタリン酸塩、クエン酸塩、酒石酸、グルコン酸等を挙げることができる。前記pH調整剤としては、水酸化ナトリウム、リン酸水素カリウム、炭酸カリウム、クエン酸等を挙げることができる。

【0021】本発明の化粧品は、前記必須成分や必要に応じて他の成分を、各種目的に応じて配合することによって、医薬品、医薬部外品又は化粧品として調製することができる。具体的にはローション、乳液、クリーム、パック剤、皮膚洗浄剤、ハップ剤、プラスター剤、ペースト剤、軟膏、エッセンス、ゲル剤、シャンプー、リンス、パウダー、ファンデーション、化粧水、洗顔料、ヘアートニック、養毛剤、浴用剤等に調製することができる。この際他の成分は、前述の成分の他に、このような各用途に従来使用されている成分を適宜選択して配合することができる。

#### 【0022】

【発明の効果】本発明のチロシナーゼ活性阻害剤は、特定のフラボノイドを有効成分とするので、メラニン生成に関与するチロシナーゼ活性を強く抑制することができる。また本発明の化粧品は、前記チロシナーゼ活性阻害剤を必須成分として含有するので、チロシナーゼ活性を抑制することによりメラニン生成を抑制し、美白作用等が期待でき、しかも前記有効成分は、化粧料中に安定に配合することができるので、広範囲に及ぶ各種化粧料とすることができる。

#### 【0023】

【実施例】以下、実施例により更に詳細に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

#### 【0024】実施例1

パンノキ(A. incisus)の木部37kgを粉砕機で細かく粉砕してパンノキ材粉末を得た。得られたパンノキ材粉末を、エーテルに浸漬し、室温で一昼夜保持した。次いで、攪拌後、濾過してエーテル抽出液を得た。得られたエーテル抽出液から溶媒及びアルトカルピン(artcarpin)を留去して母液とした。得られた母液を、シリカゲルクロマトグラフィーで処理した後、シリカゲルMPLCで2回処理し、更に逆相HPLCで2回処理して分離し、チロシナーゼ阻害活性を示す画分を選択した。得られた活性画分に含有される化合物を、LC-HR FAB MS(liquid chromatography-high resolution fast atom bombardment mass spectrometry)及びNMRにより分析したところ5, 7, 2', 4'-テトラヒドロキシフラバノン(ステッポゲニン)と同定された。単離したステッポゲニンについて、以下に示すチロシナーゼ活性阻害試験、メラニン生成抑制試験及びメラニン生成抑制効果試験を行った。

#### 【0025】チロシナーゼ活性阻害試験

0.1% L-チロシン溶液2.0ml(McIlvaine 緩衝

液、pH6.8)、試料段階希釈液としての前記ステッポゲニンを含むジメチルスルフォキシド溶液0.2ml及びマッシュルーム由来のチロシナーゼ(シグマ社製)1250unit/ml緩衝液0.1mlを混合し、37℃で10分間反応させた。次いで、475nmで吸光度を測定し、コントロールに対するIC<sub>50</sub>を求めた。その結果ステッポゲニンのIC<sub>50</sub>は507ppbであり、公知のチロシナーゼ阻害活性作用を示すコウジ酸(IC<sub>50</sub>=1230ppb)の約2.4倍の活性があることがわかった。

#### 【0026】B-16マウスメラノーマ細胞に対するメラニン生成抑制試験

B-16マウスメラノーマ細胞を10%FBSを含むMEM培地で1×10<sup>5</sup>個/5mlに調整し、T-25フラスコに5ml播種した。次いで5%CO<sub>2</sub>に調整したCO<sub>2</sub>インキュベーターで37℃、24時間培養した。細胞が完全に接着したことを確認し、ジメチルスルフォキシドに溶解した試料を最終濃度100ppmになるように添加した。培養期間は6日間とし、3日目に培地交換した。培養終了後、トリプシン処理により細胞を回収し、その白色化度及び細胞培養度を表1及び2の判定基準に従って肉眼で判定した。結果を表3に示す。表3の結果より、ステッポゲニンにおいては細胞毒性がなく、実用化に十分なメラニン生成抑制効果が得られた。

#### 【0027】モルモットを用いたメラニン生成抑制効果試験

茶色モルモットの背部をバリカンで刈毛及び剃毛した。次いで、1×1.5cmの長方形の穴を6箇所開けたアルミ箔で覆い、UV-Bランプ(商品名:FL40S-BLB(東芝株式会社製)6本、2mW/cm<sup>2</sup>の強度で総照射量1J/cm<sup>2</sup>)で1週間に3回の割合で照射し、2週間繰返すことにより色素沈着を形成した。その後1週間は色素沈着を安定化させるためにモルモットを放置した。4週目から、1日1回、1週間に5回の割合で各試料12.5μlを色素沈着部位に連続4週間塗布した。塗布前、塗布1、2、3週間後及び4週間後に、背部の写真撮影を行った後、塗布前と塗布後の色彩色差を色彩色差計(商品名:RC-100、ミノルタ社製)で測定し、その差によりΔL値を算出して皮膚色の黒化判定を行った。結果を表4に示す。表4の結果より、ステッポゲニンにおいてはメラニン生成を顕著に抑制することがわかった。

#### 【0028】実施例2～8

ステッポゲニンの代わりに、2, 4-ジヒドロキシカルコン(実施例2)、2, 4, 2', 4'-テトラヒドロキシカルコン(実施例3)、5, 2', 4'-トリヒドロキシフラバノン(実施例4)、ジヒドロモリン(実施例5)、5, 7, 2', 4'-テトラヒドロキシフラボン(実施例6)、5, 2', 4'-トリヒドロキシフラボン(実施例7)又はモリン(実施例8)を用いた以外

は、実施例1と同様に各測定を行った。結果を表3及び表4に示す。尚、実施例2、3、4、6及び7のチロシナーゼ活性阻害試験の結果、実施例2では $IC_{50}=710 \text{ ppb}$ 、実施例3では $IC_{50}=670 \text{ ppb}$ 、実施例4では $IC_{50}=580 \text{ ppb}$ 、実施例6では $IC_{50}=510 \text{ ppb}$ 、実施例7では $IC_{50}=580 \text{ ppb}$ であった。

【0029】

【表1】

細胞色判定基準	
判定	評価
1	黒色
2	
3	灰色
4	
5	白色

試料	細胞色	増殖度
コントロール	1	5
実施例1	4	5
実施例2	4	5
実施例3	4	5
実施例4	4	5
実施例5	3.5	5
実施例6	4	5
実施例7	4	5
実施例8	3.5	5
コウジ酸	3	5

実施例1：ステッポゲニン、実施例2：2,4-ジヒドロキシカルコン、  
 実施例3：2,4,2',4'-テトラヒドロキシカルコン、  
 実施例4：5,2',4'-トリヒドロキシフラボン、実施例5：ジヒドロモリン、  
 実施例6：5,7,2',4'-テトラヒドロキシフラボン、  
 実施例7：5,2',4'-トリヒドロキシフラボン、実施例8：モリン

【0032】

【表4】

試料	塗布前	1週間後	2週間後	3週間後	4週間後
コントロール	0	2	2	4	4
コウジ酸1%溶液	0	3	4	6.5	7
実施例1 1%溶液	0	3	4.5	8	13
実施例2 1%溶液	0	3.5	4	7.5	10
実施例3 1%溶液	0	3.5	5	8.5	12
実施例4 1%溶液	0	3	4	7.5	11
実施例5 1%溶液	0	3	4	7	10
実施例6 1%溶液	0	3	4.5	8	13
実施例7 1%溶液	0	3	4	7.5	11
実施例8 1%溶液	0	3	4	7	10

【0033】実施例9、比較例1

ステアリン酸4.0重量部、セチルアルコール3.0重量部、ステアリルアルコール1.0重量部、流動パラフィン6.5重量部、ワセリン10.0重量部、ソルビタンモノステアレート1.5重量部及びポリオキシエチレンモノステアレート(25E.O.)3.0重量部を加熱溶解した。次いで、この加熱溶解溶液に、実施例1で単離したステッポゲニン0.5重量部、1.3-ブチレングリコール5.0重量部、水酸化カリウム0.1重量部及び精製水65.4重量部を混合した後、冷却してクリームを得た。また比較として、ステッポゲニンをういずに精製水の量を65.9重量部としたクリームを得た。得られた各々のクリームを、20~30歳の女性パネル10人に朝と就寝前1日2回、1か月間使用させ、

【0030】

【表2】

細胞増殖判定基準	
判定	評価
1	明瞭に少ない
2	
3	コントロールの半分程度
4	
5	コントロールと同等

【0031】

【表3】

その後の肌のシミ及びソバカス改善度を評価した。評価は有効10点、やや有効5点、無効0点として肉眼判定にて行った。その結果、ステッポゲニンを配合した実施例9では平均6.0点、比較クリームでは0点であった。

【0034】実施例10、比較例2

実施例1で単離したステッポゲニン0.5重量部、ポリオキシエチレンセチルエーテル0.5重量部、プロピレングリコール2.0重量部、1-メントール0.1重量部及び精製水96.9重量部を均一に攪拌して化粧水を得た。また比較としてステッポゲニンをういずに精製水の量を97.4重量部とした化粧水を得た。得られた各々の化粧水を、実施例9と同様にパネル10人に使用させ、肌のシミ及びソバカス改善度を同様に評価した。そ

の結果、ステップゲニンを配合した実施例10では平均6.0点、比較化粧水では0点であった。

#### 【0035】実施例11、比較例3

実施例1で単離したステップゲニン0.5重量部、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油(60E.O.)1.0重量部、エタノール15.0重量部、1,3-ブチレングリコール4.0重量部及び精製水79.5重量部を混合攪拌し、各成分を溶解してローションを調製した。また比較としてステップゲニンをを用いず、精製水の量を80.0重量部としたローションを得た。得られた各々のローションを、実施例9と同様にパネル10人に使用させ、肌のシミ及びソバカス改善度を同様に評価した。その結果、ステップゲニンを配合した実施例11では平均8.0点、比較ローションでは0点であった。

#### 【0036】実施例12、比較例4

スクワラン8.0重量部、ワセリン2.0重量部、ミツロウ0.5重量部、ソルビタンセスキオレート0.8重量部及びポリオキシエチレンオレイルエーテル(20E.O.)1.2重量部を加熱溶解した。得られた加熱溶解溶液に、実施例1で単離したステップゲニン0.5重量部、カルボキシビニルポリマー0.2重量部、プロピレングリコール5.0重量部、水酸化カリウム0.1重量部、エタノール2.0重量部及び精製水79.7重量部を混合した後、冷却して乳液を調製した。また比較としてステップゲニンをを用いず、精製水の量を80.2重量部とした乳液を得た。得られた各々の乳液を、実施例9と同様にパネル10人に使用させ、肌のシミ及びソバカス改善度を同様に評価した。その結果、ステップゲニンを配合した実施例12では平均6.5点、比較乳液では0点であった。

#### 【0037】実施例13

スクワラン8.0重量部、ワセリン2.0重量部、ミツロウ0.5重量部、ソルビタンセスキオレート0.8重量部及びポリオキシエチレンオレイルエーテル(20E.O.)1.2重量部を加熱溶解した。得られた加熱溶解溶液に、5,7,2',4'-テトラヒドロキシフラボン0.5重量部、カルボキシビニルポリマー0.2重量部、プロピレングリコール5.0重量部、水酸化カリウム0.1重量部、エタノール2.0重量部、コウジ酸1.0重量部及び精製水78.7重量部を混合した後、冷却して乳液を調製した。

#### 【0038】実施例14

モノステアリン酸ポリエチレングリコール1.0重量部、親油型モノステアリン酸グリセリン2.0重量部、オリーブ油5.0重量部、オレイン酸2.0重量部を加熱溶解した。得られた加熱溶解溶液に、ジヒドロモリン0.5重量部、ヒドロキシエチルセルロース0.2重量部、プロピレングリコール2.0重量部、グリチルリチン酸ジカリウム0.1重量部及び精製水87.2重量部を混合した後、冷却して乳液を調製した。

#### 【0039】実施例15

ステアリン酸4.0重量部、セチルアルコール3.0重量部、ステアリルアルコール1.0重量部、流動パラフィン6.5重量部、ワセリン10.0重量部、ソルビタンモノステアレート1.5重量部及びポリオキシエチレンモノステアレート(25E.O.)3.0重量部を加熱溶解した。次いで、この加熱溶解溶液に、2,4,2',4'-テトラヒドロキシカルコン0.5重量部、1,3-ブチレングリコール5.0重量部、水酸化カリウム0.1重量部、アルブチン0.2重量部及び精製水65.2重量部を混合した後、冷却してクリームを得た。

フロントページの続き

(51) Int. Cl. 6

識別記号

F I

A 6 1 K 31/35

ADA

A 6 1 K 31/35

ADA

// C 0 7 C 49/835

C 0 7 C 49/835

C 0 7 D 311/30

C 0 7 D 311/30

311/32

311/32